ÉTUDE DE LA POLARITÉ SEXUELLE CHEZ *DACRYMYCES STILLATUS* Nees : Fries (BASIDIOMYCÈTE)

Dominique Claude MOSSEBO

Laboratoire de Mycologie,
Université de Yaoundé I,
B.P. 1456 Yaoundé,
CAMEROUN

RÉSUMÉ — Cette étude a permis de déterminer la polarité du basidiomycète *Dacrymyces stillatus.* Ce champignon saprophyte s'avère être un hétérothalle bifactoriel tétrapolaire (h IV). Il présente un mycélium à croissance extrêmement lente avec une très grande diversité de comportements nucléaires, tant en cultures mono- que polyspermes, ainsi que lors des croisements.

MOTS CLÉS : Basidiomycète, *Dacrymyces stillatus*, polarité sexuelle.

ABSTRACT — This study enabled the determination of the polarity of the basidiomycete *Dacrymyces stillatus.* This saprophytic fungus proved to be of the heterothallic bifactorial tetrapolar type (h IV). It is characterized by an extremely slow growing mycelium with a great diversity of nuclear behaviour in monospore, polyspore cultures and in paired spores crossings.

KEY WORDS : Basidiomycete, *Dacrymyces stillatus,* sexual polarity.

INTRODUCTION

Depuis la découverte de l'hétérothallie chez le Basidiomycète *Coprinus fimetarius* par Bensaude (1917) et des mécanismes génétiques de la reproduction sexuée chez les Basidiomycètes par Kniep (1920, 1922), l'étude de la polarité sexuelle des représentants hétérothalles de ce groupement systématique obéit généralement à un schéma classique. Celui-ci consiste à prélever un certain nombre de monospores d'une fructification de l'espèce et de les croiser 2 à 2 dans toutes les combinaisons possibles. Les résultats sont ensuite évalués et les spores regroupées dans un tableau de croisement en vue de déterminer la polarité du champignon examiné.

Dacrymyces stillatus est un champignon saprophyte se développant surtout sur bois mort d'épicéa, de pin, de hêtre et de sapin. Il fait partie des Basidiomycètes dont la polarité restait à préciser. Yen (1947, 1949) tenta cette étude mais sans obtenir de résultats concluants. Ceci résulte probablement des caractéristiques particulières du champignon ne favorisant pas une définition précise de sa polarité.

Ces difficultés résultent de la présence de fructifications anamorphes et téléomorphes (Kennedy, 1958b ; Mc Nabb, 1973 ; Reid, 1974 ; Göttel, 1983) souvent semblables et croissant parfois côte à côte sur le même substrat ou fusionnant même sur ce dernier. L'anamorphe produit des arthrospores binucléées alors que les basidiospores, produites par les téléomorphes et seules utiles pour l'étude de la polarité, sont des spores uninucléées. D'autre part, l'absence de mycélium aérien dans les cultures, associée à une absence de boucles rend obligatoire l'étude cytologique du mycélium issu des croisements. En culture au laboratoire, le mycélium pousse toujours entièrement plongé dans le milieu nutritif. D'autre part, le développement constant d'hyphes conidiennes uninuclées dans tous les types de croisements entrave l'étude cytologique

L'objet de cette étude consiste en la définition d'approches adaptées aux caractéristiques du *Dacrymyces stillatus*, en vue de déterminer sa polarité.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les souches utilisées lors de cette étude furent récoltées sur épicéa dans le bois de « Schönbuch » situé derrière l'Institut Botanique de l'Université de Tübingen, RFA. Les fructifications anamorphes et téléomorphes sont morphologiquement semblables et poussent parfois côte à côte, les souches récoltées sont au préalable étudiées pour ne retenir que celles issues de téléomorphes producteurs de basidiospores. Les travaux de Kennedy (1958a, b), Mc Nabb (1973) et Reid (1974) furent consultées pour l'étude systématique des souches récoltées.

Milieu de culture

Le milieu MYP (Malt Yeast Peptone Medium de Merck) ayant relativement assuré l'une des meilleures croissances du mycélium fut retenu : extrait de Malt, 7 g ; peptone de farine de soja, 1 g ; extrait de levure (Difco), 0.5 g ; agar, 15 g ; eau distillée, 1 000 g.

Cultures mono- et polyspermes

Une fructification est fixée à l'aide de ruban adhésif au milieu du couvercle d'une boîte de pétri. Un petit morceau de papier filtre épais imbibé d'eau stérile est inséré entre la fructification et le couvercle. Une lame porte-objet est ensuite placée au milieu de la boîte de pétri. La boîte est alors incubée durant 24 h, temps necessaire à l'éjection d'une quantité suffisante de spores sur la lame ; ces spores forment une tache jaune à jaune-orangée plus ou moins épaisse.

Les spores sont ensuite receuillies par la méthode de dilution. Trois séries de dilution (I, II, III) sont utilisées. Les colonies issues des seuils I et II, plus denses en inoculum sporales, servent de cultures polyspermes. Les colonies issues de la dilution plus importante du niveau III représentent des monospores ; elles sont, après 5 à 10 jours d'incubation, localisées sur la surface du milieu (à l'œil nu ou à l'aide d'une loupe binoculaire), puis prélevées en milieu stérile. Les colonies monospores sont ensuite mises en culture à raison d'une spore par boîte de MYP.

Le mycélium de *D. stillatus* poussant très lentement (Pl. I, fig. a et tabs. 1 et 2), les cultures sont incubées à 20-25° C pendant 8 à 10 semaines afin d'obtenir un développement suffisant pour les croisements.

Croisement des monospermes

Une étude cytologique ■ été préalablement effectuée pour s'assurer de la nature monocaryotique des mycéliums monospermes, choisis pour les croisements. Onze monospermes issus d'une fructification de la souche DM29 furent croisées 2 à 2 dans toutes les combinaisons possibles. Huit à douze semaines de culture sont nécessaires pour que le mycélium issu des croisements compatibles puisse se dicaryotiser.

Le *Dacrymyces stillatus* ne produisant pas de mycélium aérien, il a fallu, lors des cultures en vue d'études cytologiques, limiter au maximum la production d'hyphes conidiennes uninucléées (Pl. I, fig. k) qui gênent l'interprétation des résultats des croisements (Yen, 1949). Ainsi, la méthode de culture sur lame proposée par Dhingra & Sinclair (1986) a été préférée à la culture sur collodion (Kühner, 1945) dont le milieu nutritif favorisait le développement d'hyphes conidiennes.

Méthode de culture sur lame

Une baguette de verre en forme de V stérile est placée au fond d'une boîte de pétri tapissée de papier filtre. Une lame stérile portant à chaque extrémité un carré de MYP (1 cm de côté, 2 mm d'épaisseur) est déposée sur la baguette de verre. Des fragments mycéliens (2 × 3 mm), prélevés sur la ligne de contact lors d'une confrontation sont déposés sur les quatres faces latérales de chacun des cubes de MYP. Chaque bloc est ensuite recouvert d'une lamelle stérile et le papier filtre est imbibé d'eau stérile. La boîte est incubée pendant 4 à 6 semaines. Ceci permet en raison de l'absence de milieu nutritif solide ou liquide coulé sur la lame, de limiter la présence d'hyphes conidiennes uninucléées. La même technique fut utilisée pour le mycélium issu des cultures mono- et polyspermes.

Analyse cytologique du mycélium

L'analyse cytologique du mycélium est réalisée par coloration au DAPI : 4, 6 – Diamidino – 2 – phenylindole dihydrochloride hydrate, 98 % (Brunk *et al.*, 1979 ; Hooley *et al.*, 1982 ; Raju, 1982), utilisé à la concentration de 10 mg pour 50 ml d'eau. L'observation est réalisée à l'aide d'un microscope optique équipé d'un générateur de lumière fluorescente.

La lame portant le mycélium libre est débarassée des 2 blocs de milieu et des lamelles. Quelques gouttes de DAPI sont déposées sur les zones de la lame portant le mycélium.

Mesure de la croissance mycélienne des cultures

Cette étude a été effectuée en raison de l'extrême lenteur de la croissance mycélienne de *D. stillatus* et de ses conséquences sur le processus de dicaryotisation. Les diamètres de 25 cultures monospermes et de 25 croisements représentant les différents types de croissance observés (Pl. I) sont mesurés, les moyennes des croissance calculées et appréciées suivant l'échelle proposée par Boidin (1958).

RESULTATS

Croissance mycélienne et dicaryotisation

Les résultats des mesures effectuées indiquent que (Tabs. 1 et 2) les diamètres moyens des cultures monospermes à 1, 2 et 3 mois sont respectivement de 0,75, 1,55 et 2,29 cm. La vitesse de croissance diminue progressivement jusqu'au 3ᵉ mois, puis chute rapidement. En ce qui concerne les croisements, la croissance présente les mêmes caractéristiques : diamètres moyens 1,15, 2,59 et 3,05 cm respectivement après 1, 3 et 6 mois de culture ; les vitesses de croissance sont de 11,5 mm au cours du 1ᵉʳ moi de culture, 7,2 mm/mois entre le 1ᵉʳ et le 3ᵉ mois et de 1,53 mm/mois entre le 3ᵉ et le 6ᵉ mois.

Ces données révèlent une croissance régressive, surtout après le 3ᵉ mois, le mycélium étant resté viable sur le milieu nutritif jusqu'à plus de 12 mois. Ces observations placeraient *Dacrymyces stillatus* au bas de l'échelle proposée par Boidin (1958) avec une croissance de type « extrêmement lente ».

N° de la Monospore	**Ø cm 1mois**	**Ø cm 2 mois**	**Ø cm 3 mois**	**Ø cm [redacted]**	**Observations**
1	0,6	1	1.5	3.5	
2	0,9	1,4	2,5	4	**a) Plus petits diamètres**
3	0,8	1,5	3	4,5	**Mycéliens:**
[redacted]	0,7	1,6	2,5	4	0,5 cm à 1 mois
5	[redacted]	1,7	2,1	2,5	1 cm à 2 mois
6	0,7	1,4	2,4	3,5	1,5 cm à 3 mois
7	0,5	1,4	1,7	4,5	2,5 cm [redacted] 8 mois
[redacted]	1	1,6	2	4	**b) Plus grands diamètres**
9	0,8	2,2	2,2	4,5	**Mycéliens:**
10	1	1,6	2,5	4	1 cm à [redacted] mois
11	0,6	1,5	2,6	3,5	2,2 cm à 2 mois
12	0,7	1,8	2,1	3,3	3 cm à 3 mois
13	0,8	1,7	2,8	4	5 cm à 8 mois
14	0,6	1,8	2	3,2	**c) Vitesse moyenne de**
15	0,7	1,7	2,2	4	**Croissance de 0 [redacted] 3 mois:**
16	1	1,9	3	5	0,77 cm/mois ou
17	0,9	1,5	2,5	3,5	0,25 mm/jour
[redacted]	0,6	1,7	2,2	5	**d) Vitesse moyenne [redacted]**
19	0,6	1	1,8	3,1	**Croissance [redacted] le**
20	0,5	1	1,8	3,5	**3ème [redacted] 8ème mois:**
21	0,8	1,4	2,5	4	0.326 cm/mois ou
22	0,8	1,5	2	4,5	0,108 mm/jour
23	0,6	1,6	2,5	4	**e) Vitesse moyenne [redacted]**
24	0,8	1,9	2,5	4,2	**croissance pendant [redacted]**
25	0,8	1,5	2,5	4,2	**les [redacted] mois [redacted] culture:**
Moyenne	0.75	1,55	1,29	3,92 cm	0,49 cm/mois ou 0,163 mm/jour

Tabl. 1. — Croissance du mycélium de 25 monospermes jusqu'au 8ᵉ mois
Ø = Diamètre de la culture monosperme exprimé en cm.

N° du croisement	Ø cm 1 mois	Ø cm 3 mois	Ø cm 6 mois	Ø cm 12 mois	Observations
[illegible]	1	2,2	2,9	3,2	**a) Plus petits [illegible] mycélien :**
[illegible]	1,2	2,5	3,1	3,5	0,8 cm à 1 mois
3	1	3,5	3,5	4	2 cm à 3 mois
4	0,8	2,5	3,2	3,5	2,5 cm à 6 mois
5	1	3,1	3,4	3,5	2,75 cm à 12 mois
6	0,8	2,3	2,9	3,2	**b) Plus grands [illegible] mycéliens :**
7	1	2,8	3,1	3,5	1,7 cm à 1 mois
[illegible]	1,5	3,1	3,7	4	3,5 cm à 3 mois
9	1,2	2,8	3,2	3,6	3,7 cm à 6 mois
10	1,2	3	3,3	3,7	4 cm à 12 mois
11	1	2	2,5	2,75	**c) Vitesse moyenne de**
12	1,2	2,5	3,1	3,4	**croissance de 0 à [illegible] mois:**
13	1,1	3	3,1	3,5	1,15 cm/mois ou
14	1	2	2,8	3	0,38 mm/jour
15	1,1	3,2	3,5	3,8	**d) Vitesse moyenne de**
16	1,3	2,6	3,1	3,6	**croissance entre le**
17	1,1	2,7	3	3,2	**1er et [illegible] 3ème mois:**
[illegible]	1,2	3,1	3,5	3,8	0,72 cm/mois ou
19	1,4	2,6	3,2	3,6	0,24 mm/jour
20	1,7	2,2	2,7	3	**e) Vit. moy. de croiss. entre**
21	1,2	2	2,65	2,85	**le 3ème et [illegible] 6ème mois:**
22	1,3	2,8	3,1	3,5	0,153 cm/mois ou 0,051
23	1	2,2	2,5	2,75	mm/jour
24	1,2	2,2	2,7	2,85	**f) Vit. moy. de croiss. entre**
25	1,4	2	2,6	3	**le 6ème [illegible] le 12ème mois:**
Moyenne	1,15	2,59	3,05	3,37 cm	0,051 cm/mois

Tabl. 2. — Croissance de 25 croisements de spores (2 à 2) jusqu'à 12 mois
Ø = Diamètre du mycélium du croisement exprimé en cm

Comportement nucléaire du mycélium

L'analyse cytologique des monospermes utilisés lors des croisements [illegible] été effectuée afin de s'assurer que le mycélium était parfaitement monocaryotique. Celle effectuée sur les polyspermes était également nécessaire en raison de la grande diversité des comportements nucléaires des mycéliums issus des croisements. Ceux-ci ne correspondaient à aucun des comportements décrits par Boidin (1958, 1971, 1980) et Kühner (1977). L'étude avait donc pour objet de répertorier l'éventail des comportements susceptibles d'être obtenus lors des croisements et de définir des critères permettant de déterminer le type de compatibilité.

La planche II présente les résultats de cete analyse cytologique. Les résultats statistiques (Tab. 3) confirment la grande diversité des comportements nucléaires du mycélium tant en cultures mono- que polyspermes, diversité qui fut également, mais de façon plus limitée constatée par Gilbert (1921).

Ainsi seules les cultures monospermes présentant du mycélium de type F furent retenues pour les croisements, afin d'éviter d'éventuelles confusions et autres difficultés qu'auraient sûrement induits les autres types de mycélium (D, E, G1 et G2) lors de l'interprétation des résultats des croisements.

Types de mycéliums et comportements nucléaires	**Nbre de cultures monospermes**	**Nbre de cultures polyspermes**
A) Ensemble des hyphes parfaitement dicaryotique. Toutes les cellules observées ou presque sont à 2N (N+N)	0	5
B) Hyphes avec une grande majorité d'articles à N+N, mais présentant occasionnellement quelques rares articles uninucléés (à 1N) sur les mêmes hyphes	0	27
C) Hyphes présentant une alternance plus ou moins régulière d'articles à N+N et à 1N sur leur longueur	0	13
D) Hyphes avec une forte majorité d'articles à 1N mais avec çà et là quelques rares articles à N+N sur le même hyphe	23	3
E) Hyphes présentant plusieurs articles (à 1N) dont le noyau est en division (noyau probablement en anaphase) en alternance avec des articles à noyau stable ou en interphase	11	15
F) Hyphes restées entièrement à l'état monocaryotique parfait avec tous leurs articles à 1N	110	18
G) - Hyphes présentant une répartition très irrégulière (G1) des noyaux dans les articles. Nombre de noyaux variant de 0, 1, 2, 3, 4, 5 par cellule et parfois difficile à estimer. - Plusieurs hyphes fusionnées en masse (G2) avec le nombre de noyaux par cellule difficile à dénombrer.	18	12
Total de cultures examinées	**162**	**93**

Tabl. 3. — Comportement nucléaire du mycélium de *Dacrymyces stillatus* en cultures mono- et polyspermes

Types de compatibilité en cultures polyspermes

Les caractéristiques des comportements nucléaires des mycéliums en cultures polyspermes sont résumées dans le tableau 4.

Type de mycélium des croisements (tiré du Tableau 2)	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	**F**	**G, G1 ou G2**
Type de compatibilité correspondant	+	+ ou $\perp^+$ en fonction du %(N+N)	$\perp^-$ ou $\perp$ en fontion du %(N+N)	$\perp^-$ ou - en fonction du %(N+N)	-	-	-

Tabl. 4. – Types de compatibilité des croisements de cultures polyspermes.
NB : %(N+N) est le pourcentage de dicaryons estimé dans l'échantillon de mycélium prélevé de la culture ou du croisement. (+) = compatible ; ($\perp^+$, $\perp$, $\perp^-$) = semi-compatible, (-) = incompatible

Comportement de type A : Compte tenu de la rareté du mycélium parfaitement dicaryotique de type A dans les échantillons analysés (Tab. 3), il a été admis que toute culture dont le mycélium présentait un taux de dicaryons ≥ 75 % représentait un croisement compatible de type A#, B# dans le cas où *Dacrymyces stillatus* serait tétrapolaire ou de type A# dans le cas où il serait bipolaire.

Si le taux de dicaryons [n(N+N)] pour un croisement compatible a été ainsi ramené à n(N+N) ≥ 75 %, pour le cas particulier de *Dacrymyces stillatus* [au lieu de n(N+N) ≈ 100 % en règle générale], c'est pour la raison essentielle que la croissance extrêmement lente du mycélium perturbait le processus de dicaryotisation ; ce retard rendait ainsi certaines cellules anormalement anucléées, binucléées ou multinucléées alors que d'autres qui étaient sensées se dicaryotiser restaient haploïdes.

Comportement de type B : Pour le mycélium de type B, quand n(N+N) ≥ 75 %, le mycélium est considéré comme représentant un croisement compatible (+) de type A#, B# ou A# comme pour le comportement de type A. Si par contre 50 % < n(N+N) < 75 %, le croisement est considéré comme semi-compatible de type $\perp^+$ et résultant d'un croisement hétérocaryotique de type A=, B#, mais jamais A#, B= et cela en raison de l'absence des boucles chez *D. stillatus*, des rôles respectifs des facteurs d'incompatibilité A et B dans le processus de dicaryotisation et des caractéristiques des différents types d'hétérocaryons. (Casselton, 1978 ; Esser Karl, 1976, 1986 ; Janzen & Wessels, 1970 ; Marchant & Wessels, 1974 ; Raper & Flexer, 1971 ; Swiezynski & Day, 1960a, b ; Wessels, 1966, 1974).

Comportement de type C : Le mycélium de type C montre une alternance assez régulière entre cellules à 1N et 2N(N+N) sur les mêmes hyphes. En raison de l'absence de boucles chez *D. stillatus*, ce mycélium ne peut représenter qu'un croisement semi-compatible de type $\perp$ ou $\perp^-$.

Celui-ci résulte comme pour le type ■ d'un croisement hétérocaryotique de type A=, B# où le pourcentage de cellules dicaryotisées [n(N+N) ≈ 50 % pour $\perp$ et n(N+N) < 50 % pour $\perp^-$] dépend exclusivement du ± bon déroulement de la migration nucléaire, commandée par le facteur d'incompatibilité B quand B#.

Comportement de type D : Le mycélium de type D est un mycélium constitué en forte majorité de cellules restées haploïdes (à 1N) et de quelques rares cellules à 2N(N+N) sur les mêmes hyphes.

Quand 0 % < n(N+N) ≤ 5 %, le mycélium est considéré comme issu d'un croisement incompatible (-) de type A=, B= en cas de tétrapolarité ou A= en cas de bipolarité, ceci en raison du très faible taux (≤ 5 %) de cellules binucléées. Les mêmes proportions de cellules dicaryotiques sont observées dans certaines cultures monospermes (Pl. II, fig. D et Tab. 3).

Quand n(N+N) > 5 %, le mycélium est considéré comme issu d'un croisement semi-compatible de type ⊥⁻ résultant cette fois-ci d'un croisement hétérocaryotique de type A#, B=, mais non A=, B# (comme dans le type C) où la différence d'allèles (B#) du facteur d'incompatibilité B aurait sans aucun doute produit un taux de dicaryons nettement plus élevé.

Comportement de type E : Le mycélium de type E présente des noyaux en division dans les vieilles cellules intercalaires ; ceci est une caractéristique exceptionnelle, propre à *D. stillatus*. Ces noyaux en division restent cependant un phénomène marginal, car rarement observés. Le mycélium de type E est de ce fait considéré comme issu d'une légère variation du type normal F (ci-dessous), due à des facteurs restant à déterminer. Ainsi, les croisements où ce mycélium fut identifié furent considérés comme des croisements incompatibles de type A=, B= ou A= comme en F.

Comportement de type F : Le mycélium de type F reste parfaitement monocaryotique avec toutes les cellules à 1N. Sa présence dans un croisement signifit un croisement parfaitement incompatible (-) de type A=, B= ou A= suivant que l'espèce est tétrapolaire ou bipolaire.

Comportement de type G : Les mycéliums de type G1 et G2 présentent un comportemment nucléaire tout à fait singulier ; celui-ci est marqué par une répartition très irrégulière des noyaux dans les cellules où leur nombre est par ailleurs très difficile à estimer. En plus de l'effet de la mauvaise croissance du mycélium, cette caryologie particulière serait également le résultat de fusions répétées entre certaines cellules haploïdes, ceci en l'absence d'un élément régulateur (tel A # et/ou B # en cas de tétrapolarité ou A # en cas de bipolarité) des mouvements nucléaires entre cellules fusionnées. Les mycéliums de type G1 et G2 présents dans un croisement traduisent de ce fait un croisement incompatible de type A=, B= ou A= suivant que l'espèce est tétrapolaire ou bipolaire.

Résultats des croisements effectués

Les résultats des croisements sont résumés dans le tableau 5 et la polarité des souches est précisée dans le tableau 6.

Dans le tableau de polarité, nous avons regroupé certains croisements [(3 × 5), (6 × 8), (8 × 11), (1 × 10), (1 × 6)] d'apparence hétérocaryotique [marqués (2) dans le Tabl. 6], plutôt dans le groupe des croisements compatibles. Cette démarche est surtout due au fait que ces croisements présentaient (comme certains autres marqués du signe *), un mycélium à croissance fortement retardée et limitée (Pl. I, fig. h) ou avec un diamètre intermédiaire entre ceux des figures f et h de la planche I. Ces croisements ont toujours produit le même type de mycélium dont le diamètre moyen n'excédait jamais 1.25 cm et cela quel que soit le temps de culture, alors que la moyenne générale est d'environ 2.6 cm après 3 mois. Il a donc été estimé que si malgré un si grand retard de croissance, ces croisements avaient pu produire un taux de dicaryons ≥ 50 %, ce taux aurait été sans nul doute beaucoup plus élevé, si les causes de l'inhibition de croissance pouvaient être éliminées ; celles-ci demeurent encore inconnues

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1											
2	-										
3	-	+ 95%									
4	+ 80%	- *	- *								
5	-	-	⊥* 50%	-							
6	⊥* 60%	-	-	-	-						
7	+ 98%	-	-	- *	-	-					
8	- *	- *	-	+ 75%	-	⊥* 60%	+ 90%				
9	-	-	-	+ 75%	-	+ 75%	+ 99%	-			
10	⊥* 50%	-	- *	- 100	-	-	-	+ 95%	+ 80%		
11	+ 85%	-	-	- *	-	- *	-	⊥* 65%	-	-	

Tabl. 5. — Croisements des souches de *Dacrymyces stillatus*.
Les chiffres désignent les pourcentages (%) de cellules dicaryotiques estimés dans les croisements compatibles (+) et semi-compatibles(⊥) ou le % de cellules monocaryotiques dans les croisements incompatibles (-). Ceux des croisements incompatibles (-) sans indications de % sont ceux dont le nombre de cellules monocaryotiques (à 1N) était 0 % < n (N+N) ≤ 5 %.
(*) désigne les croisements présentant un mycélium à croissance exeptionnellement lente et fortement limitée du type h ou intermédiaire entre f et h de la planche I.

Le croisement 9 x 11 de type A2B2 × A1B1 (A#, B#) qui devait en principe être compatible (signe + ou 2) n'a, et à la suite de trois tentatives, produit qu'un mycélium haploïde. Ceci est une défaillance de compatibilité déjà signalée et expliquée par plusieurs auteurs (Brunswik, 1924 ; Chow, 1934 ; Kniep, 1923 ; Quinthanilha, 1933 ; Raper & Raper, 1964 ; Vandendries, 1924, 1930a, b).

		A1B1					A1B2		A2 B1	A2B2		
		7	4	10	6	11	2	5	3	9	8	1
A1 B1	7	1	1 *	1	1	1	1	1	1	2	2	2
	4	1 *	1	1	1	1 *	1 *	1	1 *	2	2	2
	10	1	1	1	1	1	1	1	1 *	2	2	(2) *
	6	1	1	1	1	1 *	1	1	1	2	(2) *	(2) *
	11	1	1 *	1	1 *	1	1	1	1	(1) D	(2) *	2
A1 B2	2	1	1 *	1	1	1	1	1	2	1	1 *	1
	5	1	1	1	1	1	1	1	(2) *	1	1	1
A2 B1	3	1	1 *	1 *	1	1	2	(2) *	1	1	1	1
A2 B2	9	2	2	2	2	(1) D	1	1	1	1	1	1
	8	2	2	2	(2) *	(2) *	1 *	1	1	1	1	1 *
	1	2	2	(2) *	(2) *	2	1	1	1	1	1 *	1

Tabl. 6. — Polarité des souches de *Dacrymyces stillatus*.
2 = Croisement compatible (+) à mycélium dicaryotique ; (2) = Croisement à mycélium d'apparence hétérocaryotique (⊥). ; 1 = Croisement incompatible (-) à mycélium monocaryotique. ; (*) = Croisement présentant un mycélium à croissance exceptionnellement lente et fortement limitée du type de la fig. h ou intermédiaire entre les types de la fig. f et la fig. h de la planche I. ; D = Défaillance de compatibilité.
Pôles des monospermes : A1B1 = {7, 4, 10, 6, 11} ; A1B2 = {2, 5} ; A2B1 = {3} ; A2B2 = {9, 8, 1}

DISCUSSION

Dacrymyces stillatus est, de par les pôles identifiés, une espèce hétérothalle tétrapolaire (h IV). Ce résultat est en corrélation avec la multiplicité des types de mycéliums produits lors des croisements. Celle-ci pouvait déjà laisser entrevoir un schéma bifactoriel tétrapolaire avec la présence de deux facteurs d'incompatibilité A et B. Ces facteurs seraient théoriquement issus d'au moins 4 types de mycélium produits par les croisements de types (A#, B#) ; (A#, B=) ; (A=, B#) et (A=,B=). Chaque type de mycélium présente une cytologie et un comportement nucléaire différent contrairement à un schéma unifactoriel (A) bipolaire ; ce dernier n'aurait en principe produit que 2 types de croisements, à savoir les croisements compatibles [(+), (A#)] à mycélium dicaryotique et les croisements incompatibles [(-), (A=)] à mycélium monocaryotique. Cette dernière éventualité est très peu vraisemblable au vu des résultats obtenus.

BIBLIOGRAPHIE

BENSAUDE M., 1917 — Sur la sexualité chez les champignons Basidiomycètes. *Comptes rendus de l'académie des sciences, Paris* 165 : 286-289.

BOIDIN J., 1958 — Essai biotaxonomique sur les Hydnés résupinés et les Corticiés. Étude spéciale du comportement nucléaire et des mycéliums. *Revue de mycologie* 22/23 (Mémoire hors série N° 6) : 5-360.

BOIDIN J., 1971 — Nuclear behaviour in the mycelium and the evolution of the Basidiomycetes. *In* : R.H. Petersen (Ed.). « Evolution in the higher Basidiomycetes ». Knoxville, University of Tenessee Press : p. 129-148.

BOIDIN J., 1980 — La notion d'espèce. II : Les mycéliums et les cycles des Basidiomycètes saprophytes. *Bulletin de la société mycologique de France* 96 : 5-16

BRUNK C.F., JONES K.C. & JAMES T.W., 1979 — Assay for nanogram quantities of DNA in cellular homogenates. *Analytical biochemistry* 92 : 497-500.

BRUNSWIK H., 1924 — Untersuchung über die Geschlechts — und Kernverhältnisse bei der Hymenomyzetengattung *Coprinus*. *Botanische Abhandlung*, Heft 5. Jena/Gustav Fischer.

CASSELTON L.A., 1978 — Dikaryon formation in higher Basidiomycetes. *In* : Smith J. E. & Berry D. R. (Ed.). The filamentous fungi, vol. 3. Edward Arnold, London. pp. 275-297.

CHOW C.H., 1934 — Contribution à lÁétude des Coprins. *Le botaniste* 26 : 89-234.

DHINGRA O.D. & SINCLAIR J.B., 1986 — *Basic plant pathology methods*. 355 p. CRC Press. Inc. Florida : p. 266-268.

ESSER K., 1976-1986 — *Kryptogamen : Cyanobakterien, Algen, Pilze, Flechten. Praktikum und Lehrbuch*. 1. und 2. Auflage : 1976 und 1986. Springer Verlag. Berlin : p. 436 - 483

GILBERT E.M., 1921 — Cytological studies of the lower Basidiomycetes. I. *Dacrymyces*. *Transactions of the Wisconsin academy of science* 20 : 387-397.

GÖTTEL G., 1983 — *Untersuchung zur Systematik der Gattung Dacrymyces Nees per Fr. (Basidiomycetes)*. Dissertation (1983). Fakultät für Biologie. Universität Tübingen / Deutschland.

HOOLEY P. *et al.*, 1982 — Duplication cycle in nuclei of germinating zoospores of *Phytophtora deschlera* as revealed by Dapi staining. *Transactions of the british mycological society* 79 : 563-566.

JANZEN F.H.H. & WESSELS J.G.H., 1974 — Enmzymic dissolution of hyphal septa in a Basidiomycete. *Antonie van Leeuwenhoek* 36 : 255-257.

KENNEDY L.L., 1958a — The Genera of the Dacrymycetaceae. *Mycologia* 50 : 874-895.

KENNEDY L.L., 1958b — The Genus *Dacrymyces*. *Mycologia* 50 : 896-899.

KNIEP H., 1920 — Über morphologische und physiologische Geschlechtsdifferenzierung (Untersuchung an Basidiomyceten). *Verhandlungen der physikalischen und medizinischen Gesellschaft von Würzburg* 46 : 1-29.

KNIEP H., 1922 — Über Geschlechtsbestimmung und Reduktionsteilung. *Verhandlung der physikalischen und medizinischen Gesellschaft von Würzburg, Würzburg* 47 : 1-29.

KNIEP H., 1923 — Über erbliche Änderung von Geschlechtsfaktoren bei Pilzen. *Zeitschrift für Induktive-Abstammungs- und Vererblehre* 31 : 170-183.

KÜHNER R., 1945 — Remarques d'ordre technique sur l'étude de la répartition des noyaux dans les mycéliums des Basidiomycètes. *Bulletin de la société linéenne de Lyon* 14 : 177-181.

KÜHNER R., 1977 — Variation of nuclear behaviour in the Homobasidiomycetes. *Transactions of the british mycological society* 68 (1) : 1-16.

Mc NABB R.F.R., 1973 — Taxonomic studies in the Dacrymycetaceae VIII. *Dacrymyces* Nees ex Fries. *New Zeland journal of botany* 11 : 461-521.

QUINTANILHA A., 1933 — Le problème de la sexualité chez les Basidiomycètes. *Boletim da sociedade Brotereana* 8, II. Ser. : 1-100.

RAJU N.B., 1982 — Easy methods for fluorescent staining of *Neurospora* nuclei. *Neurospora newsletter* 29 : 24-26.

RAPER J.R. & FLEXER A.S., 1971 — Mating Systems and Evolution of the Basidiomycetes. *In* : Petersen R. S. (Edt.). The Higher Basidiomycetes. University of Tennessee press, Nashville, USA : pp. 149-176

RAPER C.A. & RAPER J.R., 1964 — Mutations affecting heterokaryosis in *Schizophyllum commune*. *American journal of botany* 51 (5) : 503-512.

RAPER JOHN R., 1953 — Tetrapolar Sexuality. *The quarterly review of biology* 28 : 233-259.

REID D.A. 1974 — A Monograph of the British Dacrymycetales. *Transactions of the british mycological society* 62 (3) : 433-494.

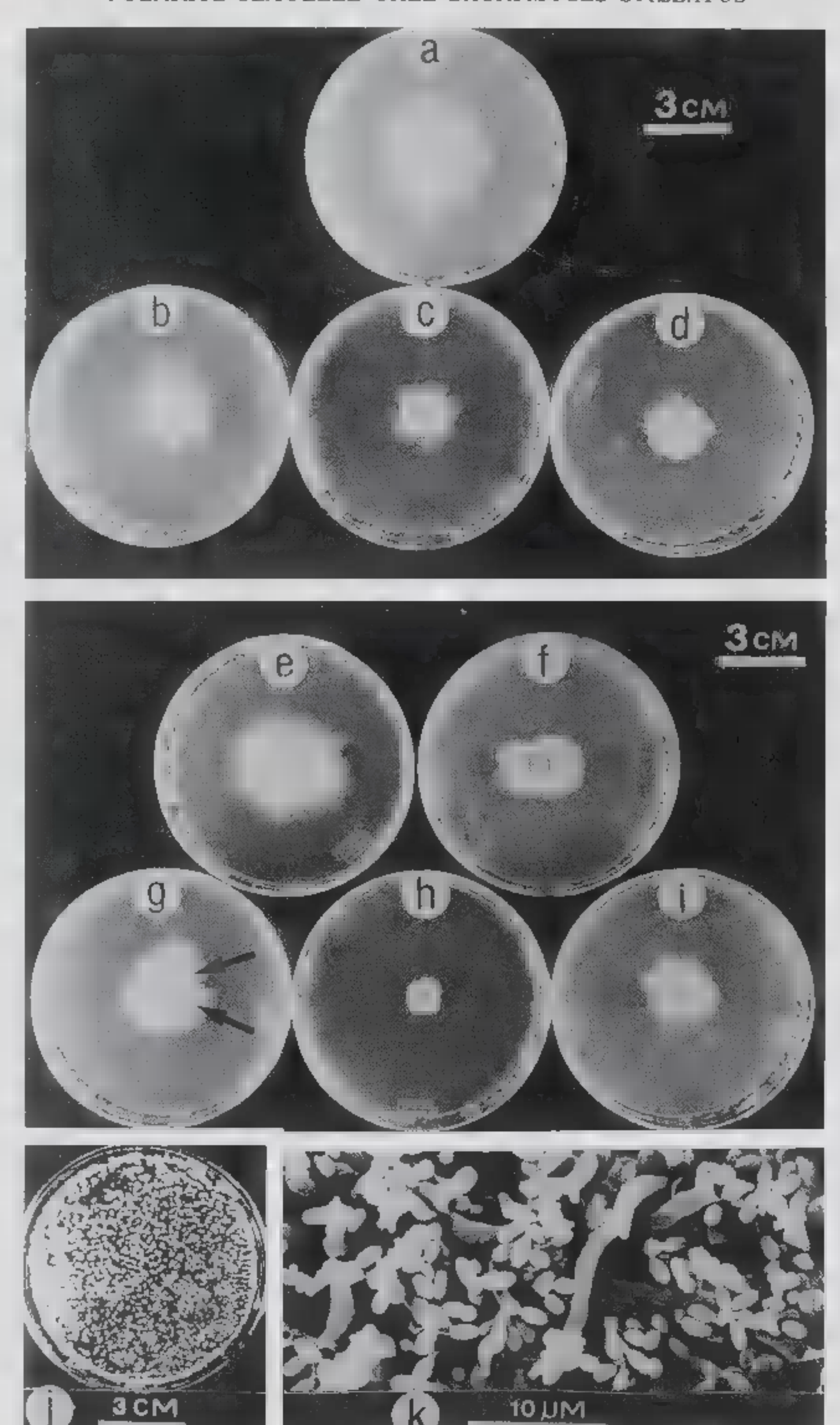
SWIEZYNSKI K.M. & DAY P.R., 1960a — Heterokaryon formation in *Coprinus lagopus*. *Genetical research, Cambridge*.1 : 114-128.

SWIEZYNSKI K.M. & DAY P.R., 1960b — Migration of nuclei in *Coprinus lagopus*. *Genetical research, Cambridge* 1 : 129-139.

VANDENDRIES R., 1924 — Recherches expérimentales sur la bipolarité sexuelle des Basidiomycètes. *Bulletin de la societé royale de botanique de Belgique* 57 : 75-78.

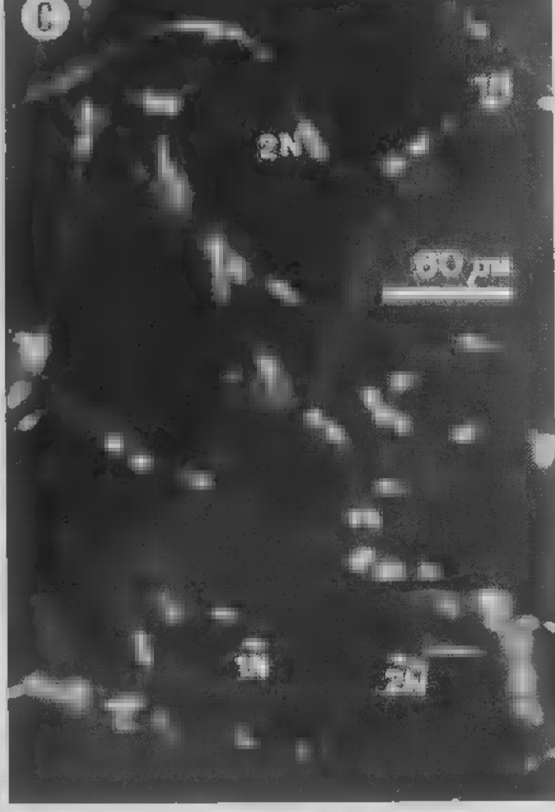
Planche I : Types de croissance mycélienne identifiés lors des cultures monospermes (fig. a à d) et lors des croisements par paires (fig. e à i). Culture polysperme (fig. j). Conidies (fig. k) sur hyphes.

NB : Les figures **a** à **d** d'une part et **e** à **i** d'autre part correspondent à des cultures agées de 12 semaines. **fig. a** : Mycélium à croissance optimale d'une monosperme. ; **fig. b** : Mycélium à croissance éparse et quelque peu retardée et limitée. ; **fig. c** : Mycélium à croissance très retardée et très limitée par rapport au normal (fig. a). ; **fig. d** : Mycélium à croissance assez retardée et surtout avec une surface mycélienne rugueuse. ; **fig. e** : Croisement avec croissance optimale du mycélium des deux monospermes croisées. ; **fig. f** : Croisement avec croissance moyenne du mycélium des deux monospermes. ; **fig. g** : Croisement où l'une des deux monospermes (celle de gauche) présente un mycélium à croissance normale alors que celui de l'autre monosperme connait une forte inhibition de croissance. Les deux flèches de la photo montrent les limites du mycélium à croissance inhibée. ; **fig. h** : Croisement montrant une très forte inhibition de croissance des deux monospermes croisées, semblable à celle du mycélium de la monosperme de droite de la fig. g. ; **fig. i** : Croisement où le mycélium des deux monospermes croisées présente les mêmes caractéristiques que celui de la fig. d. ; **fig. j** : Une culture polysperme de *Dacrymyces stillatus*. ; **fig. k** : Ultrastructure de la surface d'une culture mycélienne (sur milieu synthétique MYP) présentant des conidies. Celles-ci se détacheront à maturité du mycélium pour produire des hyphes conidiennes uninucléées.


a
3 CM
b
c
d
3 CM
e
f
g
h
i
j
3 CM
k
10 µM


A
60 µm
2N
2N


B
40 µm


C
2N
60 µm
2N

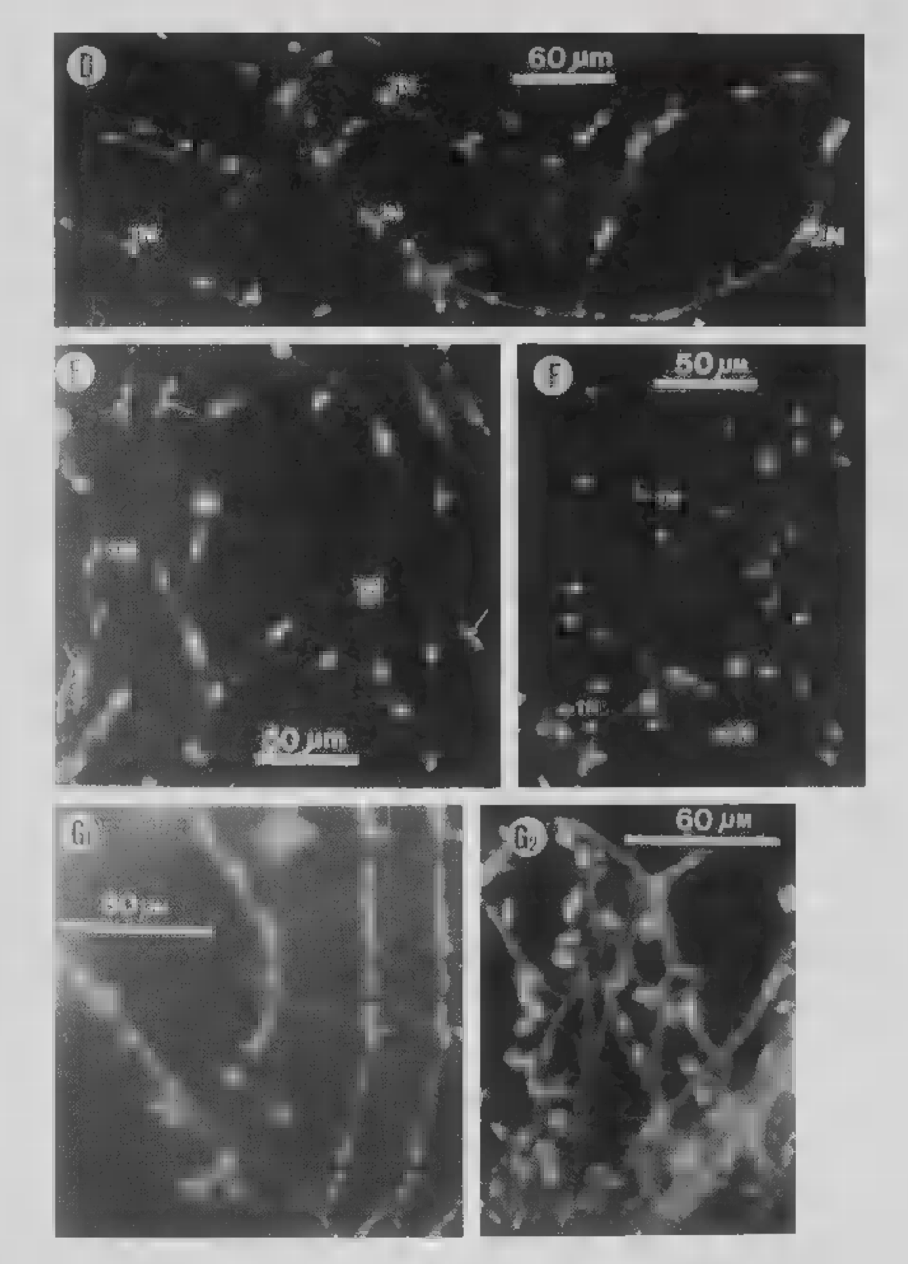


Planche II : Types de comportements nucléaires identifiés en cultures mono- (fig. D à G) et polyspermes (fig. A à G). Coloration au DAPI.

fig. **A** : Hyphes du mycélium parfaitement dicaryotique. Toutes les cellules observées ou presque sont à 2N (N+N). ; **fig. B** : Hyphes présentant une grande majorité d'articles à 2N (N+N) avec quelques rares articles à 1N. ; **fig. C** : Hyphes présentant une alternance plus ou moins régulière d'articles à 2N (N+N) et à 1N. ; **fig. D** : Hyphes avec une majorité d'articles à 1N (monocaryons),mais avec quelques rares articles à 2N (N+N) sur la même hyphe. ; **fig. E** : Hyphes avec des noyaux en division (noyaux probablement en anaphase : voir flèches sur image) en alternance avec des articles uninucléés (à 1N) à noyaux stables, probablement en interphase. ; **fig. F** : Hyphes monocaryotiques avec des articles à 1N. ; **fig. G** : — **G1** : Hyphes présentant une répartition très irrégulière des noyaux ; leur nombre (x) par cellule est variable. — **G2** : Hyphes parfois fusionnées en masse compacte avec une répartition très irrégulière des noyaux dans les cellules. Le nombre de noyau (x) par cellule est variable.

VANDENDRIES R., 1930a — Conduite sexuelle de *Psathyrella disseminata* et essais de détermination des valeurs relatives des réalisateurs sexuels selon Hartmann. *Bulletin de l'Académie royale des sciences, des lettres et des beaux arts de Belgique. Classe des sciences* 16 : 1235-1249.

VANDENDRIES R., 1930b — La Bipolarité sexuelle chez " *Coprinus disseminatus* " Pers. *Bulletin de la societé royale de botanique de Belgique* 62 : 133-136.

WESSELS J.G.H., 1966 — Control of cell-wall Glucan degradation during development in *Schyzophyllum commune*. *Antonie von Leeuwenhoek* 32 : 341-355.

WESSELS J.G.H., 1974 — Enzymic degradation of septa in hyphal wall preparations from a monokaryon and dikaryon of *Schyzophyllum commune*. *Journal of general microbiology* 83 : 359-368.

YEN H.C., 1947 — Recherches expérimentales sur la sexualité des Calocérales. *Comptes Rendus de l'Académie des sciences de Paris* 225 : 1367-1368

YEN H.C., 1949 — Contribution à l'étude de la sexualité et du mycélium des Basidiomycètes saprophytes. *Annales de l'université de Lyon, Secteur C : Sciences. Nat.* 6 : 5-127.